An. Inst. Univ. Nal. Autón. México, 38, Ser. Zool. (1):9-16 (1967).

RABIA EN DOS ESPECIES DE MURCIELAGOS INSECTIVOROS GENERO *PTERONOTUS*, EN CONDICIONES NATURALES, COLECTADOS EN JALISCO, MEXICO

Bernardo Villa-R., Graciela Meza Ruiz, Bertha Ortiz Bonilla y Beatriz Villa Cornejo*

RESUMEN

De entre una población numerosa de murciélagos congregados en el interior de una cueva situada en las cercanías del Lago de Chapala, Estado de Jalisco, se capturaron al azar 24 murcielaguitos de falsas espaldas desnudas, *Pteronotus davyii fulvus* y 4 murciélagos bigotudos *Pteronotus rubiginosa mexicana.* Estas y otras especies se encontraban ocupando el refugio con el vampiro común, *Desmodus rotundus murinus.*

Estudiados virológicamente por los métodos de Seller, inmunofluorescencia e inoculación a ratones suizos cepa Webster de una semana de edad, presentaron corpúsculos de Negri y antígenos de rabia en uno o en varios de los órganos y tejidos estudiados, hasta en un 41.8 por ciento de la muestra en consideración, (murciélagos *Pteronotus davyii fulvus*).

El 25 por ciento fue positivo en las glándulas salivales (parótidas, sublinguales y submaxilares tratadas en conjunto), que los autores califican como el camino de salida del virus rábico hacia otros vertebrados (depredadores), hacia otros murciélagos de la misma o de otras especies y, ocasionalmente al hombre.

SUMMARY

Among a numerous congregation of bats dwelling in a cave in the vicinity of Lake Chapala, State of Jalisco, 24 naked backed bats, *Pteronotus davyii fulvus* and 4 *Pteronotus rubiginosa mexicana* were captured at random.

These and other species were found sharing the cave with the common vampire bat, *Desmodus rotundus murinus.*

Studied virologically by Seller's method, inmunofluorescence and inoculation in one week old Webster strain White mice, in up to 41.8% of the sample studied, Negri bodies and rabies antibodies were found in one or several of the organs or tissues treated.

25% were positive in salivary glands (parotids, sublinguals and submaxiliaris mixed) which the authors consider as the outgoing route of rabies virus to other vertebrates, as well as to other bats of the same of diferent species and ocasionally to men.

INTRODUCCION

Los resultados que se consignan en el presente trabajo se han obtenido durante la continuación de nuestras investigaciones acerca de la presencia del virus de la rabia en los murciélagos de México, en condiciones naturales.

Con anterioridad se han presentado otros trabajos relacionados con otras especies de

* Instituto de Biología, U.N.A.M.

quirópteros que forman parte del complejo mastozoológico de la República (Villa-R. B., *et al.*, 1963: 137-140; 1963 (2): 77-82 y Alvarez B. *et al.*, 1964 (3); 387-392) e incluyen frugívoros, hematófagos, ictiófagos y otros insectívoros.

En este informe se presentan los resultados del estudio de los pequeños murciélagos de falsas espaldas desnudas, *Pteronotus davyii fulvus* que forman grandes congregaciones, conviviendo frecuentemente con otras especies de diversos géneros pero, por lo común, con el bigotudo *Pteronotus rubiginosa mexicana* (véase Villa-R. B., 1967: 180-184), del que se estudiaron y se dan los resultados aquí, de cuatro individuos.

Agradecemos a los National Institutes of Health, Grant E-3890 el patrocinio de este estudio.

MATERIAL Y METODOS

El 28 de marzo de 1964, dos de nosotros (B. Villa-R. y Beatriz Villa Cornejo), en compañía de algunos miembros del personal de la Sección de Mastozoología, obtuvimos 24 ejemplares de *P. d. fulvus.* Los individuos de esta raza formaban un conjunto de varios millares; de entre varios cientos sólo se transportó al laboratorio, además de los murciélagos antes mencionados, a cuatro *P. r. mexicana.*

La colecta se llevó a cabo en la cueva designada con el nombre de "Cueva D.C.B." (para el uso de este nombre véase Villa-R., B., 1967: 189) situada a 7.5 km Oeste de Jamay, 1520 m sobre la orilla oriental de la Laguna de Chapala, Jalisco.

Este refugio de murciélagos se abre en forma de una grieta en una roca de conglomerados de arenisca y cantos rodados que, a la profundidad de cinco metros, se ensancha para formar una galería de varias cámaras de dimensiones más bien reducidas. La primera se alcanza después de pasar con cierta dificultad la pared casi vertical de la grieta; esta es de tal modo reducida que sólo permite el acomodamiento de dos personas y ocupa una posición inferior a las otras dos cámaras; éstas se continúan hacia arriba, siendo una más profunda y amplia que la otra; la tercera sigue su curso en forma oblicua, alcanzando una profundidad superior a los diez metros en forma de túnel burdamente circular, de un diámetro aproximado a dos metros que, en su extremo final, se ensancha abriéndose en su piso otra grieta llena de agua putrefacta a causa del guano y los orines de los murciélagos, así como de otros detritus que se acumulan en ella.

Toda la cueva desprende olores repugnantes, no sólo por la presencia del agua mencionada, sino también por la de las heces sanguinolentas de vampiros que se acomodan en el punto en que confluyen las dos cámaras superiores descritas, donde la temperatura era, en el momento de nuestra visita, de 30°C y la humedad relativa de 100%. Exploramos la cueva entre las 11 y las 16 horas.

Es en ésta donde se congregan preferentemente los murcielaguitos de espaldas desnudas *P. d. fulvus;* también encontramos tres especies de murciélagos insectívoros (*Macrotus waterhousi mexicana*) y frugívoros (*Artibeus j. tryomilus*) lo mismo que hematófagos (*Desmodus rotundus murinus*) o vampiros. Cuando se altera esta asociación por la presencia de intrusos, los vampiros buscan refugio en las hendiduras y grandes fisuras de conglomerado de arenisca que constituye el factor abiótico de esta interesante comunidad biológica. Con frecuencia los vampiros se mezclan con los otros murciélagos.

Esta cueva es visitada regularmente por campesinos que residen en las cercanías para extraer el guano, que utilizan como fertilizante en sus cultivos; en alguna otra ocasión, Villa encontró expuestas al sol, sobre la superficie de las rocas, a la entrada de la cueva, las heces sanguinolentas de los vampiros para utilizarse, secas, como abono en los hortalizas de las orillas del lago. El hecho es insólito; no le habíamos visto en ninguna otra parte del país, pues es frecuente el uso del guano de otros murciélagos, pero no de vampiros.

De los ejemplares transportados vivos al laboratorio, se extrajeron el cerebro, la grasa café o glándula interescapular, las glándulas salivales (parótidas, sublinguales y submaxilares, mezcladas), el riñón y el bazo.

Cada uno de los árganos se conservó en un tubo de ensayo que se marcó y selló a fuego, conservándose en hielo seco para darles una temperatura de —60°C.

Los métodos fueron: 1) Tinción por el método de Seller; 2) Inmunofluorescencia (FA); 3) Inoculación a ratones mamones, cepa Suiza Webster, de una semana de edad.

La trituración de los tejidos se hizo con mortero y agente abrasivo. El diluyente usado fue solución salina —suero de conejo. Se incluyeron dos miligramos de sulfato de dihydrostreptomicina y 1,000 unidades de penicilina cristalizada por mililitro de suspensión de tejido. El tejido de murciélago comprendió el diez por ciento del peso. Las pruebas por FA se hicieron de acuerdo con las técnicas convencionales (Johnson, H. N., 1964: 356-380); las de Seller igualmente. (Seller, T. F., 1927: 1080-1081).

RESULTADOS

De los veinticuatro ejemplares de *Pteronotus davyii fulvus* estudiados usando la técnica de Seller, se encontraron siete positivos; lo que significa un porcentaje de 29.1 de positividad (Cuadro 1).

Con FA, se encontraron los siguientes datos en los diferentes organismos examinados: cerebro, siete positivos arrojando el 29.1 por ciento; glándula interescapular, cinco positivos, con un porcentaje de 21.7; glándula salival (incluyendo parótidas, sublinguales y submaxilares mezcladas), seis positivos, dando un porcentaje de 25.0; en riñón se encontraron cinco positivos, siendo el porcentaje de 21.7; en bazo sólo aparecieron dos ejemplares positivos de diez que se estudiaron, como se puede ver en el Cuadro 2.

Examinando el cuadro 3, que presenta con mayor detalle los resultados obtenidos con FA, se observa que en cerebro los casos positivos corresponden a los ejemplares que en el experimento se marcaron con los números 7, 8, 12, 18, 26, 30 y 36.

En glándula interescapular son positivos los ejemplares números 12, 18, 26, 30 y 36.

En las glándulas salivales son positivos los ejemplares números 7, 8, 18, 26 y 32.

En riñón son positivos los ejemplares números 7, 22, 26, 30 y 36.

En bazo son positivos los ejemplares números 7 y 30.

Por consiguiente, de los datos precedentes se desprende que diez de los veinticuatro individuos sometidos a estudio, resultaron positivos por presentar antígenos flourescentes en alguno o algunos de los órganos o tejidos tratados, arrojando un porcentaje del cuarenta y uno punto ocho por ciento. El murciélago número 7 sólo apareció negativo en la glándula interescapular, por lo que puede considerarse afectado con una virosis casi generalizada. Precisa hacer notar que, a pesar de esto, el animal no presentó síntomas claros de rabia durante la captura, ni durante el lapso en que se conservó cautivo antes de sacrificarlo para su estudio. Su comportamiento en nada se diferenció del de los otros murciélagos de su misma especie.

La inoculación homogeneizada de los órganos y tejidos de los murciélagos 7, 8, 9 y 12 produjeron la muerte de los ratones con los síntomas característicos de la rabia. Los resultados logrados por este método concuerdan con los anteriores, cercanamente; por ejemplo, se ha visto que el murciélago número 7 fue positivo en todos los órganos y tejidos estudiados; al hacerse la inoculación en el ratón era de esperarse la manifestación de la enfermedad, como aconteció.

La inoculación de los homogeneizados de los órganos y tejidos de los murciélagos 15, 18, 22 y 23, por el contrario, produjeron resultados de singular significación: los ra-

tones inoculados presentaron los primeros síntomas de la enfermedad entre el séptimo y el décimo días: el pelambre se tornó opaco; los pelos estaban erizados; había incoordinación de movimientos, pero sorprendentemente se fueron recuperando primero lenta y luego rápidamente, de manera que al cabo de treinta días en que se les tuvo en observación directa, sanaron; para mayor seguridad de estos resultados tan peculiares, se les conservó hasta los noventa días comportándose como animales sanos. No se hicieron estudios posteriores de ellos.

Los homogeneizados de los otros seis murciélagos que fueron positivos con Seller o con inmunofluorescencia, no produjeron ningún síntoma de la enfermedad en los pequeños ratones que recibieron el inóculo.

De los cuatro *Pteronotus rubiginosa mexicana* estudiados, usando la técnica de Seller, sólo uno resultó positivo; el porcentaje en esta muestra es, por consiguiente, del 25 por ciento (Cuadro 1).

Con el método de FA se obtuvo lo siguiente: cerebro, negativo; glándula interescapular, negativa; glándulas salivales, positivas; riñón y bazo negativos, como se observa en el cuadro número 4.

Los homogeneizados de cada uno de los órganos mencionados en el parágrafo anterior se inocularon a ratones mamones y los resultados fueron negativos.

CUADRO 1

Presencia de Corpúsculos de Negri en cerebro de los murciélagos estudiados, usando la técnica de Seller

Especie	Nº de ejemplares examinados	Nº de positivos	Nº de negativos	% de positivos
P. d. fulvus	24	7	17	29.1
P. r. mexicana	4	1	3	25.0

CUADRO 2

Presencia de rabia en algunos tejidos de *Pteronotus davyii fulvus* usando la técnica de inmunofluorescencia

Organo	Nº de ejemplares examinados	Nº de positivos	Nº de negativos	% de positivos
Cerebro	24	7	17	29.1
Glándula interescapular	23	5	18	21.7
Glándula salival	24	6	18	25.0
Riñón	23	5	18	21.7
Bazo	10	2	8	20.0

CUADRO 3

Presencia de rabia usando el método de Seller y el de Inmunoinfluorescia en murciélagos cuyo número se indica, de la Especie *P. d. fulvus*

Nº sucesivo	Nº de cada ejemplar estudiado		INMUNOFLUORESCENCIA				
		Seller	Cerebro	G. inter-escapular	Glándula salival	Riñón	Bazo
1	7	*	*		*	*	*
2	8	*	*		*		
3	9						
4	10						
5	11						
6	12	*	*	*			
7	13						
8	14						
9	15						
10	16						
11	17						
12	18		*	*	*		
13	19						
14	20						
15	21						
16	22	*				*	
17	23						
18	24						
19	26		*	*	*	*	
20	29						
21	30	*	*	*		*	*
22	32	*			*		
23	34	*					
24	36		*	*		*	

CUADRO 4

Presencia de rabia en órganos examinados de *Pteronotus rubiginosa mexicana* usando la técnica de FA

	Nº de ejemplares examinados	Positivos	Negativos	% de postivos
Cerebro	4	0	4	0
Glándula interescapular	4	0	4	0
Glándula salival	4	1	3	25

DISCUSION

Son varios los factores que determinan la mortalidad masiva en las poblaciones de murciélagos gregarios. Algunos están determinados por el número de individuos en las congregaciones; grado de actividad; gasto de energía asociado con las emigraciones, con la reproducción, clima, disponibilidad de alimento durante las diferentes estaciones del año e intensidad de la depredación de que son víctimas por otros vertebrados y hasta por otros murciélagos, accidentes y enfermedades. Entre éstas, la rabia parece que juega un papel importante, tomando en consideración las grandes cantidades de murciélagos que se han encontrado, muertos o moribundos, en algunas cuevas de México (Villa-R., B., 1956, 26: 54 y 552; Villa-R., B. y William López Forment C., 1967, 37 [1-2]: 192).

En el caso a que se refiere el presente trabajo, la colecta de los ejemplares se hizo enteramente al azar; ninguno de los individuos presentó clara sintomatología del padecimiento al momento de la colecta o antes de sacrificarlo para su estudio; sin embargo, la muestra arrojó un 41.8 por ciento de positividad. En el cuadro número 3 aparece claramente indicado que algunos presentan la infección en varios órganos o tejidos a la vez. Desde el punto de vista epizootiológico, es de la mayor importancia que el 25 por ciento de las muestras estudiadas demostró positividad en las glándulas salivales, un hecho que, sin duda, tiene la significación de puente de paso del virus rábico hacia otros murciélagos de la misma especie o de las otras especies que forman la asociación, a los depredadores que se alimentan de ellos y, en no pocas veces, al hombre.

Nos hemos detenido describiendo las condiciones abióticas de este agrupamiento de murciélagos, porque revelan una situación que tiene importancia también en la salubridad pública. Se ha visto que a pesar de la estrechez del refugio, los campesinos de la región penetran para recolectar el guano no sólo de los murciélagos insectívoros sino también las heces fecales y sépticas de los vampiros. Con excepción de esto último, lo mismo sucede en un gran número de cuevas en todo el territorio de la nación. En la literatura se registran casos de rabia transmitida por murciélagos insectívoros a través de mordeduras al hombre, lo que es particularmente notable en los Estados Unidos de Norteamérica(Humphrey, G. L., *et al.*, 1960, 75 (4): 317-326; Lenette, *et al.*, 1960, 55: 89-94; Kough, R. H., 155: 441;

Sulkin, S. E. *et al.,* 50: 620-621; Tierkel, E. S. *et al.*, 1958; 248-255; Witte E. J., 1954, 44: 186-187).

Por cuanto concierne a los ejemplares 7 y 8 del cuadro número 3 que corresponden a la especie *Pteronotus davyii fulvus,* con presencia de antígenos de rabia en todos los tejidos examinados (que bien se puede calificar como una virosis rábica generalizada) sólo representan un caso más entre los comedores de insectos; se han encontrado con frecuencia en los vampiros, particularmente en el Brasil por R. A. da Silva y colaboradores (1967), que han informado de la presencia del virus de la rabia en el útero, feto, testículos, glándulas salivales, glándulas interescapulares, pulmones, riñones, músculo pectoral, bazo, corazón y lengua por inoculación a ratones, usando el método de Faraco. En nuestro estudio, la inoculación a ratones produjo en éstos la enfermedad, pero un buen número de ellos (los que recibieron el inóculo de tejidos de murciélagos menos infectados), se recuperaron al principio lenta y después rápidamente, hasta parecer sanos. El estudio de estos ratones no se continuó por razones ajenas a nuestra voluntad; es posible que esto se pueda relacionar con los casos observados originalmente por Hurst y Pawan en Trinidad (1936, 35 (3): 301-302) y por otros autores quienes han comprobado que los murciélagos se recuperan. Da Silva, R. A. (1967) ha observado que los ratones inoculados se recuperan y se comportan posteriormente como animales sanos. Nuestros resultados, por otra parte, demuestran, una vez más, la eficacia del método de inmunofluorescencia para el diagnóstico de esta enfermedad, no sólo en el tejido nervioso central, sino en otros tejidos.

LITERATURA CITADA

ALVAREZ-LOMELÍ, B., B. VILLA-R. y A. WIMSATT. 1964. Contribución al Conocimiento de la Epidemiología (*sic*) de la Rabia en algunos Murciélagos de la República Mexicana. *Bol. Inst. Estud. méd. biol. Univ. Nac. México, 22*: 387-392. Diciembre.

DA SILVA, R. A. et al. 1967. Comunicación personal.

HUMPHREY, G. L., GRAHAM E. KEMP, and E. GLEEN WOOD. 1960. A Fatal Case of Rabies in a Woman Bitten by an Insectivorous Bat. *Publ. Health Rep. Wahsington,* 75 (4): 317-326.

HURST, E. W., and J. L. PAWAN. 1936. A Further Account of the Trinidad Oubreak of Acute Rabies Myelitis, Hist. of the Experimental Disease. *J. Path. Bact. 35* (3): 301-303.

JOHNSON, H. N. 1964. Diagnosis Procedures for Viral and Ricketsial Diseases, edited by E. H. Lennette, and N. J. Schmidt. American Public Health Association, New York, pp. 356-380.

KOUGH, R. H. 1954. Attack on a Human Being by a Rabid Insectivorous Bat. *J. American Med. Ass.* 155:441. May 29.

LENNETTE, E. H., O. A. SOAVE, NAKAMURA, and G. H. KELLOGG JR. 1960. Fatal Human Case of Rabies Following the Bite of a Rabid Bat (*Lasionycteris noctivagans*) Isolation and Identification of Virus from Vector and Victim. *J. Lab. Clin. Med.,* 55: 89-94. anuary

SELLER, T. F. 1927. A New Method for Staining Negri Bodies of Rabies. *Am. J. Publ. Health.* 17: 1080-1081.

SULKIN, S. E., and M. J. Greeve. 1954. Human Rabies Caused by Bat Bite. *Texas J. Med.,* 50: 620-621. August.

TIRKEL, E. S., and P. ARSTEIN. 1958. The Present Status of Bat Rabies in the United States. *Proc. 62d. Annual Meeting of the U. S. Livestock Sanitary Association.* Miami Beach, Fla. pp 248-252. Nov. 4-7.

VILLA-R., B. 1956. Una Extraña y Severa Mortandad de Murciélagos *Mormoops megalophylla* en el Norte de México. *An. Inst. Biol. Univ. México.* 26: 547-552.

——, B. ALVAREZ-LOMELÍ y CÉSAR DOMÍNGUEZ. 1963. Presencia y Persistencia del Virus de la Rabia en la Glándula Interescapular de Algunos Murciélagos Mexicanos. *Ciencia,* 22 (5): 137-140. Agosto 10.

——, B. ALVAREZ-LOMELÍ. 1963. Rabies Virus in the Kidney and other Tissues of Vampire Bats in Western Mexico. *Zoonoses Res.* 2 (2): 77-82. Agosto 25.

——, 1967. *Los Murciélagos de México. Su importancia en la Economía y la Salubridad. Su clasificación Sistemática,* Inst. de Bol., U.N.AM., 491 pp., 171 Figs. 98 Mapas.

phylla en el Norte de México. An. *Inst. Biol., Univ. México,* 26: 547-552.
——, B. ALVAREZ-LOMELÍ y CÉSAR DOMÍNGUEZ. 1963. Presencia y Persistencia del Virus de la Rabia en la Glándula Interescapular de Algunos Murciélagos Mexicanos. *Ciencia,* 22 (5): 137-140. Agosto 10.
——, y B. ALVAREZ LOMELÍ. 1963. Rabies Virus in the Kidney and other Tissues of Vampire Bats in Western Mexico. *Zoonoses Res.* 2 (2): 77-82. Agosto 25.
——, 1967. *Los Murciélagos de México. Su importancia en la Economía y la Salubridad. Su clasificación Sistemática,* Inst. de Bio., U.N.A.M., 491 pp., 171 Figs. 98 Mapas.
——, y WILLIAM LÓPEZ FORMENT C. 1967. Cinco Casos de Depredación de Pequeños Vertebrados en Murciélagos de México. *An. Inst. Biol. Univ. México, 37* (1-2): 187-194. Septiembre 20.
WITTE, E. J. 1954. Bat Rabies in Pennsylavnia. *Am. J. Publ. Hlth, 44*: 186-187.

Entregado para su publicación el 19 de Diciembre de 1967.